

SAH
#3
4.27.01
PATENT

09/748435
IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE
Applicant: HIRAO et al.
Serial No.: 09/748435
Filed: 12/26/2000
Title: BLOOD TESTING TOOL
Examiner: ~~Unknown~~
Group Art Unit: ~~1764~~ 1743
Docket No.: 10873.632US01

CERTIFICATE UNDER 37 CFR 1.8: The undersigned hereby certifies that this correspondence is being deposited with the United States Postal Service, as first class mail, with sufficient postage, in an envelope addressed to: Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231, on March 26, 2001

By:
Name: Kristen Smith

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT(S)

Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

Dear Sir:

Applicants enclose herewith certified copies of Japanese applications, Serial No. 11-374825, filed December 28, 1999, Serial No. 2000-084352, filed March 24, 2000, and Serial No. 2000-084353, filed March 24, 2000, the right of priority of which is claimed under 35 U.S.C. §

119.

Respectfully submitted,

MERCHANT & GOULD P.C.
P.O. Box 2903
Minneapolis, Minnesota 55402-0903
(612) 332-5300

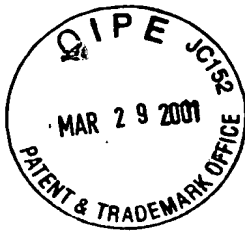
Dated: March 26, 2001

By

Douglas P. Mueller
Reg. No. 30,300

DPM/kas

RECEIVED
MAR 30 2001
TC 1706 MAR 30 2001



日本国特許庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年12月28日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第374825号

出願人

Applicant(s):

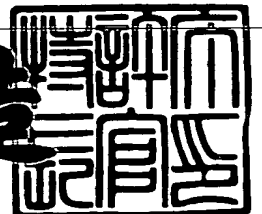
アークレイ株式会社

RECEIVED
MAR 30 2001
TC 1700 MAIL ROOM

2001年 1月26日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3114725

【書類名】 特許願

【整理番号】 R3698

【提出日】 平成11年12月28日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 33/48

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 株式会社京都第一科学内

 【氏名】 田中 義行

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 株式会社京都第一科学内

 【氏名】 野田 雄一郎

【発明者】

 【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地 株式会社京都第一科学内

 【氏名】 平尾 佳

【特許出願人】

 【識別番号】 000141897

 【氏名又は名称】 株式会社京都第一科学

【代理人】

 【識別番号】 100095555

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 池内 寛幸

 【電話番号】 06-6361-9334

【選任した代理人】

 【識別番号】 100076576

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 佐藤 公博

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012162

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9601589

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 血液検査用具

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 厚み方向に平均孔径が連続的または不連続的に小さくなる孔径分布の非対称性多孔質膜を有し、前記非対称性多孔質膜において、その一部が血液供給部であり、その他の一部が展開部であり、前記血液供給部と前記展開部との間に、血球が通過できない孔径の孔のみからなる血球遮断部が形成され、血液を前記血液供給部の孔径が大きい側の面に供給すると、毛細管現象により前記血液は前記多孔質膜の面方向に移動するが、前記展開部には、血漿または血清のみが移動して展開する血液検査用具。

【請求項 2】 血液供給部と展開部との間に溝が形成され、前記溝の底面からこの底面に対応する非対称性多孔質膜表面までの間の部分が、血球遮断部である請求項 1 記載の血液検査用具。

【請求項 3】 展開部が、血球が通過できない孔径の孔のみからなる請求項 1 記載の血液検査用具。

【請求項 4】 血球遮断部の孔径が $1 \sim 50 \mu\text{m}$ の範囲である請求項 1 ～ 3 のいずれか一項に記載の血液検査用具。

【請求項 5】 非対称性多孔質膜において、その最大孔径が $30 \sim 300 \mu\text{m}$ の範囲であり、その最小孔径が $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の範囲である請求項 4 記載の血液検査用具。

【請求項 6】 非対称性多孔質膜が、単層構造である請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の血液検査用具。

【請求項 7】 非対称性多孔質膜が、支持体で支持されている請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の血液検査用具。

【請求項 8】 非対称性多孔質膜が、ポリスルホン、ポリアミド、ポリイミド、ポリカーボネート、ポリスチレンおよびポリアリールヒドラジドからなる群から選択された少なくとも一つの樹脂から形成された請求項 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の血液検査用具。

【請求項 9】 請求項 2 記載の血液検査用具を製造する方法であって、非対称

性多孔質膜の一部を圧縮することにより溝を形成する製造方法。

【請求項 1 0】 請求項 2 記載の血液検査用具を製造する方法であって、非対称性多孔質膜の一部を切り取り、溝を形成する製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、血液検査に使用する血液検査用具に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

血液を検査する場合、検体毎に使い切るシート状の血液検査用具（試験片ともいう）が汎用されている。この検査用具は、血液を保持し、ここから血液を抽出して検査を行うタイプのものや、予め試薬等を含浸させ、血液と試薬とを反応させて光学的手法や電気化学的手法により測定するものなどがある。

【0 0 0 3】

このような、血液検査用具は、一般の臨床検査等では汎用されているが、これだけでなく、例えば、遠隔臨床検査システムにおいても、使用することが検討され、一部で実際に使用されている。この遠隔臨床検査システムは、在宅で患者等が血液を自己採血し、これを血液検査用具に含浸乾燥させ、この血液検査用具を病院などの検査機関に郵送し検査するシステムである。血液を郵送した患者等は、郵便等で検査結果を知ることができ、また直接病院等に出向いても検査結果を知ることができる。

【0 0 0 4】

血糖値等のように、検査項目が血漿または血清中の成分の場合は、血液検査用具において、血球を分離する必要がある。従来の血液検査用具では、ガラスフィルター等の血球分離材を血液検査用具に組み込むことが一般的であった。この他に、最近、孔径が厚み方向に変化する非対称性多孔質膜を用いた血液検査用具も開発されている。非対称性多孔質膜の孔径が大きい方の面から血液を供給すると、血液が厚み方向に浸透する過程で血球が分離され、血漿または血清が反対側に出てくる。非対称性多孔質膜を用いた血液検査用具は、血球の目詰まりが防止さ

れるという利点を有する。

【0005】

しかしながら、これら従来の血液検査用具は、血漿または血清の回収量が少ないという問題がある。例えば、従来の血液検査用具での血漿または血清の回収率は、多くて約25%程度であった。このため、血漿または血清中の微量成分を分析する場合、サンプル量が不足して正確な分析ができなくなるおそれがあった。特に、遠隔臨床検査システムでは、患者自身が採血するため、多量の血液の確保が難しく、また検査項目も多いことから、血漿または血清の回収量の向上が求められていた。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

そこで、本発明の目的は、容易に血球分離を行い、血漿または血清を高い収率で回収できる血液検査用具を提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】

前記目的を達成するために、本発明の血液検査用具は、厚み方向に平均孔径が連続的または不連続的に小さくなる孔径分布の非対称性多孔質膜を有し、前記非対称性多孔質膜において、その一部が血液供給部であり、その他の一部が展開部であり、前記血液供給部と前記展開部との間に、血球が通過できない孔径の孔のみからなる血球遮断部が形成され、血液を前記血液供給部の孔径が大きい側の面に供給すると、毛細管現象により前記血液は前記多孔質膜の面方向に移動するが、前記展開部には、血漿または血清のみが移動して展開するという用具である。

【0008】

このように、本発明の血液検査用具は、非対称性多孔質膜において、血液をその面方向（横方向）に移動させ、その途中で血球を分離する。このようにすれば、従来のように厚み方向に移動させる場合と異なり、強力な毛細管現象を発現させることができ、多量の血漿または血清を回収できる。また、また移動してきた血漿または血清を保持するための部位も充分確保できる。このため、本発明の血液検査用具によれば優れた回収率で血漿または血清を得ることができ、かつ、血

球の分離も充分に行なうことができる。本発明の血液検査用具における血漿または血清の回収率は、例えば、約 60～70% である。また、本発明の血液検査用具では、血液供給部と展開部とが重なりあっていないから、光学的手段（目視も含む）により直接測定を行なう場合は、前記展開部のいずれの面からも測定することができる。なお、本発明において、「血球が通過できない孔径の孔」とは、孔径が血球の球径より小さいという意味ではなく、どのようなメカニズムかは問わず、結果的に血球が通過できない孔径であればよい。したがって、血球が通過できない孔径には、血球の球径より大きい孔径も含まれる。また、「平均孔径が不連続的に小さくなる」とは、例えば、段階的に小さくなること等をいう。

【0009】

本発明の血液検査用具において、前記血液供給部と前記展開部との間に溝が形成され、前記溝の底面からこの底面に対応する非対称性多孔質膜表面までの間の部分が、血球遮断部であることが好ましい。

【0010】

本発明の血液検査用具において、前記展開部が、血球が通過できない孔径の孔のみからなることが好ましい。このように、展開部が血球遮断部を兼ねている構造でもよい。

【0011】

本発明の血液検査用具において、前記血球遮断部の孔径が 1～50 μm の範囲であることが好ましく、より好ましくは 5～30 μm の範囲、特に好ましくは 10～20 μm の範囲である。

【0012】

本発明の血液検査用具において、前記非対称性多孔質膜の最大孔径が 30～300 μm の範囲であり、その最小孔径が 1～30 μm の範囲であることが好ましい。

【0013】

本発明の血液検査用具において、前記非対称性多孔質膜が、単層構造であることが好ましい。このように単層構造であれば界面（層と層との接触面）がないため、例えば、界面がある場合に比べて血漿または血清の移動が容易になり、また

、血球が界面に接触した場合におこる溶血等も防止できる。

【0014】

本発明の血液検査用具において、前記非対称性多孔質膜が、支持体で支持されていることが好ましい。これによれば、前記非対称性多孔質膜の強度に関係なく、十分な強度の血液検査用具を得ることができ、取り扱いが簡便になる。

【0015】

本発明の血液検査用具において、前記非対称性多孔質膜が、ポリスルホン、ポリアミド、ポリイミド、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリアリーールヒドライド等の樹脂から形成されたことが好ましく、より好ましくは、ポリスルホンである。

【0016】

つぎに、本発明の血液検査用具の製造方法は、前記血液供給部と展開部との間に溝が形成され、前記溝の底面からこの底面に対応する非対称性多孔質膜表面までの間の部分が血球遮断部である前記血液検体用具の製造方法であって、前記非対称性多孔質膜の一部を圧縮することにより溝を形成する方法である。また、前記非対称性多孔質膜の一部を切り取り、溝を形成する方法であってもよい。

【0017】

このような方法により前記非対称性多孔質膜に溝を形成すれば、容易に前記血球遮断部を形成することができる。

【0018】

【発明の実施の形態】

(実施形態1)

図1に本発明の血液検査用具の一例を示す。同図(a)は、血液検査用具の平面図であり、同図(b)はそのI-I方向断面図である。図示のように、この血液検査用具10は、単層の非対称性多孔質膜からなり、血液供給部11、展開部12および前記両者間に形成された溝を有している。前記溝の底面からこの底面に対応する非対称性多孔質膜表面までの間の部分13が血球遮断部となる。

【0019】

前記非対称性多孔質膜の各部位の孔径は、例えば、以下に示すとおりである。

前記血液供給部 11 の最大孔径は、例えば、 $30 \sim 300 \mu\text{m}$ の範囲であり、好ましくは $50 \sim 150 \mu\text{m}$ の範囲、最小孔径は、例えば、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の範囲であり、好ましくは $5 \sim 10 \mu\text{m}$ の範囲である。展開部 12 の最大孔径は、例えば、 $30 \sim 300 \mu\text{m}$ の範囲であり、好ましくは $50 \sim 150 \mu\text{m}$ の範囲、最小孔径は、例えば、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ の範囲であり、好ましくは $5 \sim 10 \mu\text{m}$ の範囲である。前記血球遮断部 13 の孔径は、例えば、 $1 \sim 50 \mu\text{m}$ の範囲であり、好ましくは $5 \sim 30 \mu\text{m}$ の範囲である。

【0020】

前記血液検査用具 10 の大きさは、特に制限されず、供給する血液検体の量等に応じて適宜決定できる。供給する全血が約 $80 \sim 120 \mu\text{l}$ の場合、前記血液供給部 11 の大きさは、厚み $50 \sim 500 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは厚み $150 \sim 400 \mu\text{m}$ の範囲であり、長さ $1 \sim 30 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは長さ $5 \sim 15 \text{mm}$ の範囲であり、幅 $1 \sim 30 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは幅 $5 \sim 20 \text{mm}$ の範囲である。前記展開部 12 の大きさは、厚み $50 \sim 500 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは厚み $150 \sim 400 \mu\text{m}$ の範囲であり、長さ $1 \sim 50 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは長さ $10 \sim 40 \text{mm}$ の範囲であり、幅 $1 \sim 50 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは幅 $10 \sim 40 \text{mm}$ の範囲である。前記血球遮断部 13 の大きさは、厚み $1 \sim 200 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは厚み $50 \sim 150 \mu\text{m}$ の範囲であり、長さ $1 \sim 30 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは長さ $5 \sim 15 \text{mm}$ の範囲であり、幅 $1 \sim 2000 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは幅 $100 \sim 1000 \mu\text{m}$ の範囲である。また、溝の最大幅は、 $1 \sim 2000 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは $100 \sim 1000 \mu\text{m}$ の範囲であり、溝の最小幅は、 $1 \sim 2000 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは $100 \sim 1000 \mu\text{m}$ の範囲である。血液検査用具 10 全体の大きさは、厚み $50 \sim 500 \mu\text{m}$ の範囲が好ましく、より好ましくは厚み $150 \sim 400 \mu\text{m}$ の範囲であり、全長 $2 \sim 100 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは全長 $20 \sim 80 \text{mm}$ の範囲であり、幅 $1 \sim 50 \text{mm}$ の範囲が好ましく、より好ましくは幅 $10 \sim 40 \text{mm}$ の範囲である。

【0021】

前記非対称性多孔質膜は、前述のような樹脂から形成されることが好ましく、この中でも、作製の容易性や適度な剛性等の理由から、好ましくはポリスルホンである。このような非対称性多孔質膜は、前記樹脂を用いて作製してもよいし、市販の非対称性多孔質膜、例えば、U. S フィルター社製のBST-SP、Primecare社製のMPS等を使用してもよい。

【0022】

前記非対称性多孔質膜は、例えば、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、ポリビニルアルコール（PVA）、カルボキシメチルセルロース（CMC）等の親水性高分子や、レシチン、界面活性剤等の処理溶液に浸漬することにより、親水化処理を施してもよい。前記処理溶液の濃度は、例えば、0.1～50重量%の範囲であり、処理時間は、例えば、0.1～24時間の範囲である。前記溶液の溶媒としては、例えば、水や各種有機溶媒等が使用でき、前記有機溶媒としてはエタノール等のアルコール類等があげられる。

【0023】

前記展開部12は、展開して保持する血漿または血清中の成分を安定に保つために、例えば、スクロース、トレハロース、ラクトース、グルコース等の糖類、塩化ナトリウム、塩化カリウム等の塩類、グリシン、リン酸緩衝剤、クエン酸緩衝剤、グッド緩衝剤等の緩衝剤等の安定化剤を含有してもよい。前記安定化剤の含有量は、その種類等によって適宜決定できるが、例えば、展開部12の体積1cm³当たり0.01～100mgの範囲である。前記安定化剤は、一種類でもよいし、二種類以上を併用してもよい。また、前記安定化剤は、前記展開部12だけでなく、非対称性多孔質膜全体に含有させてもよい。

【0024】

前記溝は、例えば、前記非対称性多孔質膜の表面の一部を圧縮して形成できる。例えば、円盤状ローラーを転がして圧縮したり、刃先が鈍い刃物で切れない程度に圧縮することにより形成できる。このように、圧縮により溝を形成した場合、血球遮断部において、非対称性多孔質膜の大きい孔径の孔も含まれることとなるが、圧縮により孔が変形したり潰れたりしているため、血球が通過することがない。

【 0 0 2 5 】

また、前記溝は、例えば、カッター等の刃物を用いて、前記非対称性多孔質膜の一部を切り取って形成してもよい。この時の溝の大きさなどは前述と同様である。

【 0 0 2 6 】

つぎに、図 1 に基づき、前記血液検査用具 1 0 に血液を添加して血漿試料または血清試料を調製する一例について説明する。

【 0 0 2 7 】

まず、血液を血液供給部 1 1 の孔径が大きい側の面（同図（b）において、上面）に滴下する。血液は、血液供給部 1 1 の内部を厚み方向に移行しながら血球を分離しつつ、その面方向（同図（b）において矢印方向）に移動する。面方向の移動により血球遮断部 1 3 に達した血液のうち、血球は血球遮断部 1 3 を通過できずに捕獲され、血漿または血清のみが前記血球遮断部 1 3 を通過して、展開部 1 2 に展開される。

【 0 0 2 8 】

この血液検査用具 1 0 を、風乾または自然乾燥等により乾燥した後、前記血液検査用具 1 0 から展開部 1 2 を切り抜き、または展開部 1 2 からパンチ等による打ち抜き等を行なう。

【 0 0 2 9 】

切り抜き等により得られた切片を、例えば、試験管に入れ、これに抽出溶液を添加して放置することによって血漿または血清を抽出し、回収する。前記抽出溶液としては、血漿または血清を抽出でき、血漿または血清中の分析対象成分の検出に影響を与えないものであれば特に制限されず、例えば、緩衝液、生理食塩水、精製水、蛋白溶液等が使用でき、これらの混合液であってもよい。前記緩衝液としては、例えば、リン酸、クエン酸、塩酸、酢酸等を含む各種緩衝液等があげられ、その pH は、例えば、pH 6 ～ 8 の範囲である。前記抽出溶液の添加量は、特に制限されないが、切片の大きさ等によって適宜決定でき、例えば、切片体積の 1 ～ 1 0 0 0 倍の範囲である。また、抽出処理時間は、特に制限されず、例えば、1 ～ 3 0 0 分の範囲である

【 0 0 3 0 】

そして、前記回収液を用いて、血漿または血清中の分析対象成分の測定を行ない、成分量を決定する。

【 0 0 3 1 】

一方、この血液検査用具において、展開部 1 2 に保持された血漿または血清を抽出液で回収せずに、そのまま分析を行なうこともできる。

【 0 0 3 2 】

この場合は、予め、前記展開部 1 2 に分析用試薬を含有させればよい。前記展開部に試薬を配置する方法は、例えば、印刷法、含浸法、噴霧法等があげられる。

【 0 0 3 3 】

前記試薬は、特に制限されず、目的の分析対象成分の種類により適宜決定できる。前記試薬の成分としては、例えば、各種酵素、リン酸塩や炭酸塩等の緩衝物質、発色剤等があげられる。具体的には、グルコースを分析する場合は、例えば、グルコキナーゼ、グルコース-6-リン酸脱水素酵素、 β -NADP、ATP および緩衝液等を含有させればよい。

【 0 0 3 4 】

また、展開部 1 2 に、血漿または血清の移動方向に対し並列に試薬を含有させれば、同一の血液検査用具において、多項目の分析を行なうことができる。この場合、多項目の試薬が混合しないように、例えば、疎水性樹脂溶液の含浸により境界層を設けることが好ましい。

【 0 0 3 5 】

このような血液検査用具は、前記実施形態 1 と同様にして血液を供給し、血漿または血清を展開させると、展開部 1 2 内で各種分析対象成分とその検出試薬とが、それぞれ反応する。この反応による発色等を、電気化学的手法や光学的手法（目視を含む）により検出すれば、容易に分析を行なうことができる。

【 0 0 3 6 】

（実施形態 2）

図 2 に、本発明の血液検査用具のその他の例を示す。図示のように、この血液

検査用具 2 0 は、単層の非対称性多孔質膜からなり、展開部 2 2 が、血液供給部 2 1 より厚みが薄く形成され、血球が侵入しないようになっている。

【 0 0 3 7 】

この血液検査用具 2 0 は、展開部 2 2 の厚み、その最大孔径およびその最小孔径が前記実施形態 1 の血球遮断部と同じであり、血液供給部 2 1 と展開部 2 2 との境界において血球が遮断され、血漿のみが展開する。前記展開部 2 2 の厚みおよび孔径以外は、前記実施形態 1 の血液検査用具と同じ構成であり、その使用も同様にして行なうことができる。

【 0 0 3 8 】

このような血液検査用具は、例えば、非対称性多孔質膜の血液供給部 2 1 以外の領域について、孔径が大きい方の面側を、ナイフの刃等で所定の厚み分だけ削り取ることにより作製できる。

【 0 0 3 9 】

(実施形態 3)

図 3 に、非対称性多孔質膜が支持体で支持されている本発明の血液検査用具の一例を示す。図示のように、この血液検査用具 3 0 は、前記実施形態 1 における非対称性多孔質膜が支持体 3 4 上に積層されている。同図において、図 1 と同一部分には同一符号を付している。

【 0 0 4 0 】

前記支持体 3 4 を形成する材料としては、例えば、ポリスチレン、ポリエチレンテレフタレート (PET)、ポリ塩化ビニル、アクリル樹脂、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合体 (ABS) 等のプラスチックが使用できる。前記材料は、いずれか一種類には制限されず、二種類以上を使用してもよい。

【 0 0 4 1 】

また、例えば、前述のように光学的手法等によって、支持体 3 4 側から血液検査用具 3 0 を直接測定する場合は、展開部 1 2 に対応する箇所が、光透過性であることが好ましい。この場合、前記材料としては、例えば、ポリスチレン、PET、アクリル樹脂等が好ましい。

【 0 0 4 2 】

また、さらに、支持体を非対称性多孔質膜の上面（同図において上面）に積層してもよい。この場合、非対称性多孔質膜の血液供給部 1 1 に対応する箇所に、血液を供給するための貫通孔を設けることが好ましい。

【0043】

【実施例】

（実施例 1）

20 重量%グリシン水溶液に浸漬して親水化処理を行った帯状の非対称性多孔質膜（ポリスルホン製、長さ 35 mm、幅 16 mm、厚み 320 μ m、最大孔径 50~100 μ m、最小孔径 5~10 μ m）を、30 重量%スクロース溶液に浸漬後、乾燥させた。この多孔質膜の長さ方向の一端から 12 mmの部分において、円盤ローラを加圧して転がして、その幅方向に、溝（最小幅 0.1 mm、最大幅 1 mm、深さ 150~250 μ m）を形成し、図 1 に示すような血液検査用具を作製した。この血液検査用具において、血液供給部の長さは 11 mmであり、展開部の長さは 23 mmである。

【0044】

前記血液供給部の中心に健常者全血 100 μ l を滴下し、前記展開部に血清を十分に展開させてこれを乾燥した。前記血液検査用具から前記展開部を切り出し、これをさらに短冊状に切断した後、この切片を試験管（容量 500 μ l）に入れ、さらに、抽出溶液として生食等張 PBS 溶液（Phosphate-buffered saline: pH 7.4、以下同じ）150 μ l を添加した。室温で 20 分間放置した後、遠心分離して、上清を血清試料液とした。そして、前述と同様にして、合計 20 検体の血清試料液を調製し、これらについて、以下に示すように各成分の測定を行なった。なお、コントロールとしては、同健常者の全血をヘパリン採血管で採取し、遠心分離（3000 rpm、10 分間）して得られた血漿を使用した。

【0045】

実施例の各血清試料液およびコントロールの血漿試料液中の各成分量は、以下に示す市販キットを用いて、それらの使用方法に準じて測定した。各種測定において、ブランクは精製水を用いた。

【0046】

1. 尿素窒素 (BUN)

: 尿素窒素II-HAテストワコー (7070: 和光純薬工業社製)

2. トリグリセライド (TG)

: トリグリセライドE-HAテストワコー (和光純薬工業社製)

3. グルコース (Glc)

: グルコースII-HAテストワコー (和光純薬工業社製)

4. トータルコレステロール (T-Chol)

: デタミナーL TCII (協和メデックス社製)

5. グルタミックスオキサロアセティックトランスアミナーゼ (GOT)

: トランスアミナーゼHR-II (GOT-7070: 和光純薬工業社製)

6. グルタミックスピルビックトランスアミナーゼ (GPT)

: トランスアミナーゼHR-II (GPT-7070: 和光純薬工業社製)

7. γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ (γ -GTP)

: γ -GTP J-HAテストワコー (和光純薬工業社製)

8. クレアチンキナーゼ (CPK)

: CK E-HAテストワコー (和光純薬工業社製)

【0047】

これらの結果を、図4～図11に示す。これらの図は、本発明の血液検査用具を用いて調製した血清試料中の成分量と、コントロールの成分量との関係を示すグラフであり、図4はBUN、図5はTG、図6はGlc、図7はT-Chol、図8はGOT、図9はGPT、図10は γ -GTP、図11はCPKの成分量（濃度）をそれぞれ示す。

【0048】

前記各図に示すように、本発明の血液検査用具を用いて調製した血清試料は、遠心分離により調製した血漿中の成分量（コントロール）と同様の値が得られ、両者は高い相関関係を示した。このことから、本発明の血液検査用具により、血清を回収しても、その成分測定は高い信頼性があるといえる。また、血液検査用具の展開部において、ヘモグロビンによる赤い着色が見られなかったことから、血球が充分に分離されていることが確認された。

【0049】

(実施例 2)

前記実施例 1 と同様の血液検査用具を作製して、その血液供給部の中心にヘパリン採血管を用いて採血した健常者全血 $100\mu\text{l}$ (ヘマトクリット (Ht) 40%) を滴下し、前記展開部に血漿を十分に展開させてこれを乾燥した。そして、前記実施例 1 と同様にして抽出操作を行い、得られた上清を血漿試料液とした。同様にして合計 20 個の血液検査用具を作製し、同血液の血漿試料液を調製した。

【0050】

(比較例 1)

前記実施例 1 と同様の非対称性多孔質膜 (長さ 14 mm、幅 14 mm) を未処理のまま (溝を形成せずに)、展開部となるセルロース膜 (長さ 14 mm、幅 14 mm、厚み $550\mu\text{m}$) に積層し、積層型の血液検査用具を作製した。前記セルロース膜は、30 重量% スクロース溶液に浸漬した後、乾燥したものを使用し、前記非対称性多孔質膜は、孔径が小さい側の面を前記セルロース膜上に積層した。

【0051】

そして、前記血液検査用具の非対称性多孔質膜表面に、前記実施例 2 と同様の全血を滴下し、前記セルロース膜に血漿を展開させてこれを乾燥した。前記非対称性多孔質膜とセルロース膜とを分離し、前記セルロース膜を短冊状に切断した後、前記実施例 1 と同じ条件で抽出操作を行い、得られた上清を血漿試料液とした。同様にして合計 20 個の積層型血液検査用具を作製し、同血液の血漿試料液を調製した。

【0052】

前記実施例 2 および比較例 1 の各血漿試料液における回収血漿量およびヘモグロビン (Hb) 量を以下に示す方法により測定した。これらの結果を下記表 1 に示す。

【0053】

(血漿回収量の測定)

前記実施例 2 および比較例 1 の各血漿試料液について、自動分析器（製品名 B M - 8 : 日本電子社製）を用いて、総タンパクの量を測定した。そして、全血 $100\mu\text{l}$ 中の血漿量の理論値およびその血漿中の前記総タンパク量を基準とし、実施例 2 および比較例 1 の総タンパク量の測定値から回収された血漿量を求めた。前記血漿量の理論値は、全血の H t が 40% であることから $60\mu\text{l}$ とし、その血漿中の総タンパク量の基準値は、同じ全血を遠心分離して得られた血漿について、前記自動分析器により測定した値とした。血漿回収率は、血漿量の理論値を 100% とした場合の相対値（％）である。

【 0 0 5 4 】

（H b の測定）

既知濃度の H b 溶液について、 410nm の吸光度を測定することにより検量線を作成した。そして、前記各血漿試料液の 410nm の吸光度を測定し、この吸光度と前記検量線とから H b 濃度を求めた。

【 0 0 5 5 】

（表 1）

サンプル数		血漿回収量 (μl)	血漿回収率 (%)
実施例 2	20	39 ~ 46 (平均 42)	65 ~ 77 (平均 70)
比較例 1	20	11 ~ 41 (平均 17)	18 ~ 68 (平均 28)

【 0 0 5 6 】

（表 2）

サンプル数		H b 濃度 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)
実施例 2	20	0 ~ 170 (平均 40)
比較例 1	20	70 ~ 720 (平均 220)

【 0 0 5 7 】

前記表 1 に示すように、実施例の血液検査用具によれば、比較例の血液検査用

具に比べて、2 倍以上の収率で血漿を回収することができた。また、展開部に流れた血球およびその溶血を、血漿試料中の H b 濃度の測定により確認したところ、前記表 2 に示すように、実施例の血液検査用具では、比較例と異なり、血球がほとんど展開部に移動することはなく、また溶血も防止されていた。このことから、実施例の血液検査用具によれば、血漿を高収率で回収し、かつ、各種成分の測定を阻害する原因となる血球の分離も充分に行うことができ、溶血も防止されることが確認できた。

【 0 0 5 8 】

【発明の効果】

以上のように、本発明の血液検査用具によれば、血漿または血清を高い収率で回収でき、血球も充分に分離することができる。このため、血液試料が少ない場合でも充分に血漿または血清を回収することができ、例えば、臨床医療等の分野に有用であり、血液採取量が限られている遠隔臨床検査システムに特に有用である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

(a) は、本発明の血液検査用具の一実施例を示す平面図であり、(b) はその断面図である。

【図 2】

本発明の血液検査用具のその他の実施例を示す断面図である。

【図 3】

本発明の血液検査用具のさらにその他の実施例を示す断面図である。

【図 4】

本発明のさらにその他の実施例において、回収した血清中の B U N 量を示すグラフである。

【図 5】

前記実施例において、回収した血清中の T G 量を示すグラフである。

【図 6】

前記実施例において、回収した血清中の G l c 量を示すグラフである。

【図 7】

前記実施例において、回収した血清中の T - C h o 量を示すグラフである。

【図 8】

前記実施例において、回収した血清中の G P T 量を示すグラフである。

【図 9】

前記実施例において、回収した血清中の G O T 量を示すグラフである。

【図 1 0】

前記実施例において、回収した血清中の γ - G T P 量を示すグラフである。

【図 1 1】

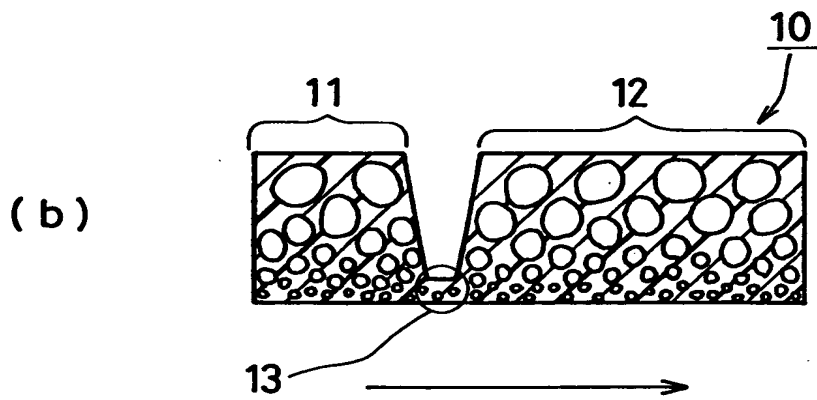
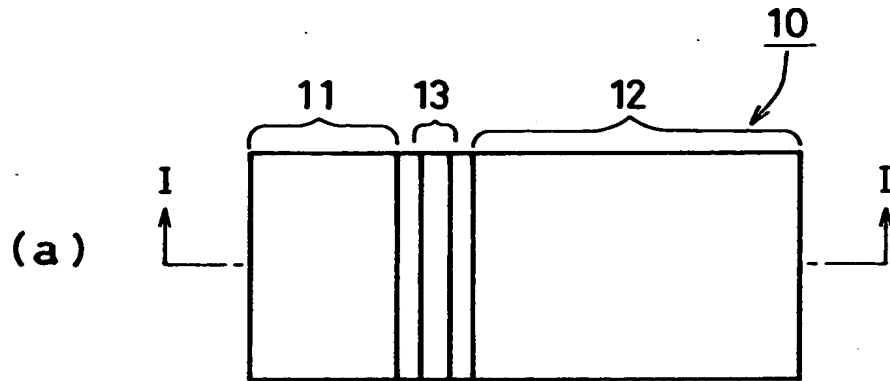
前記実施例において、回収した血清中の C P K 量を示すグラフである。

【符号の説明】

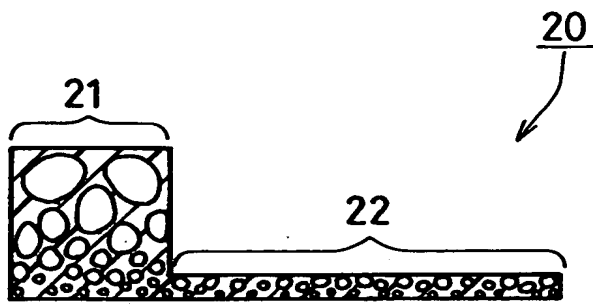
- | | |
|-------------|--------|
| 1 0、2 0、3 0 | 血液検査用具 |
| 1 1、2 1 | 血液供給部 |
| 1 2、2 2 | 展開部 |
| 1 3 | 血球遮断部 |
| 3 4 | 支持体 |

【書類名】 図面

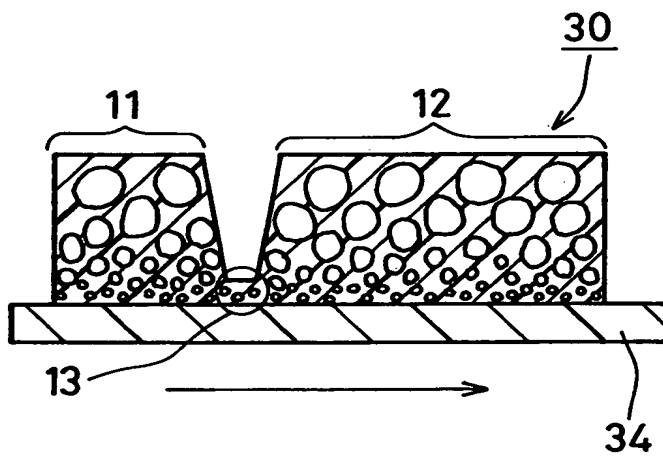
【図 1】



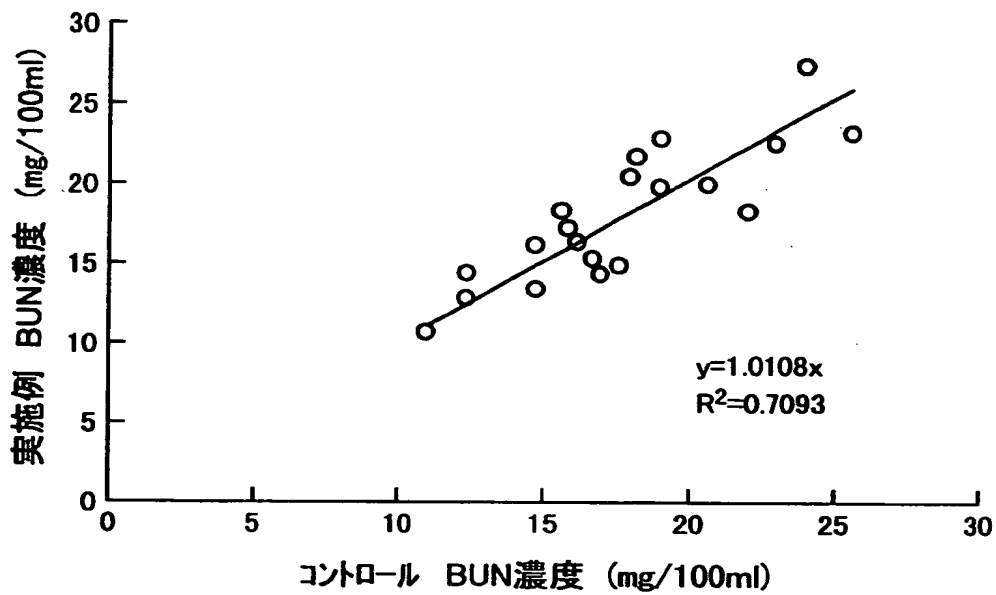
【図 2】



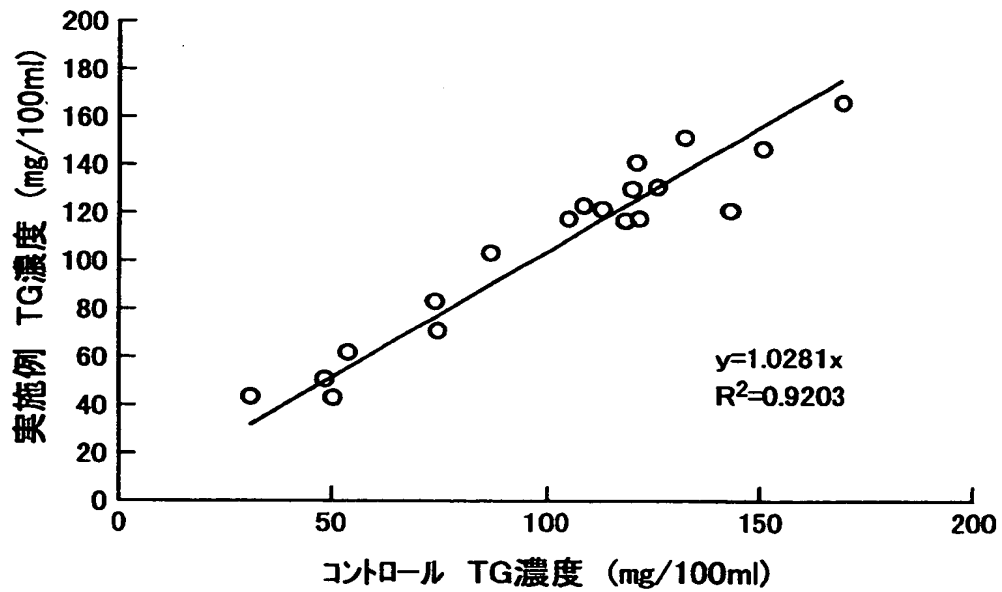
【図 3】



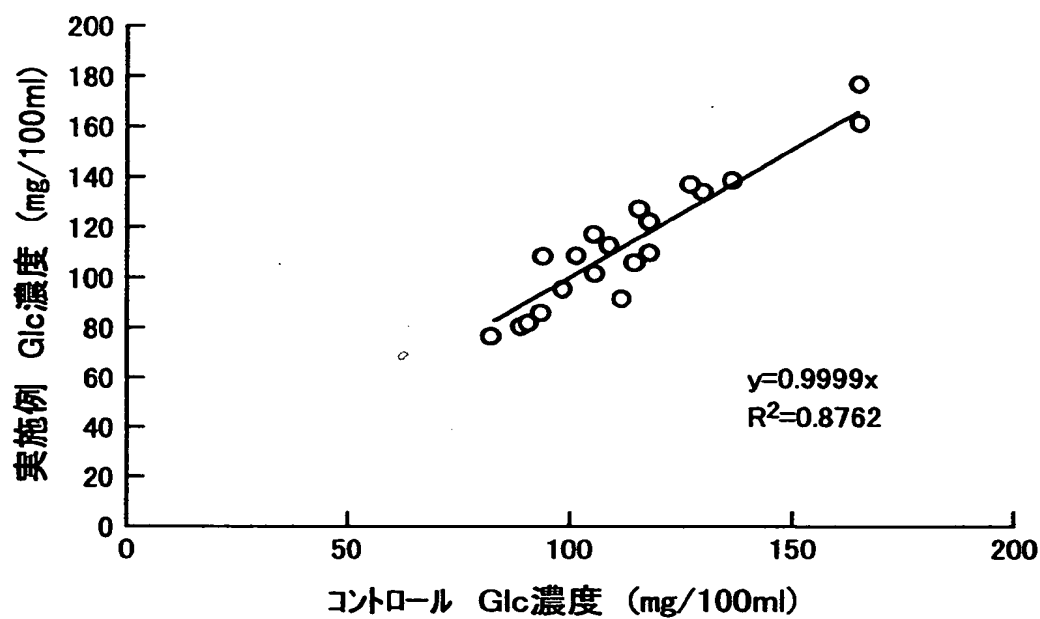
【図 4】



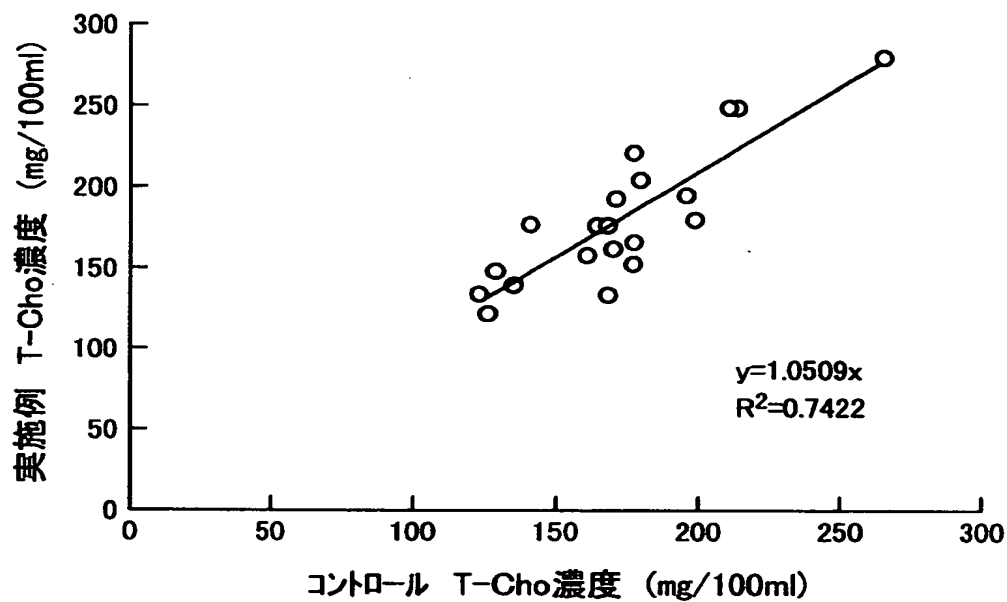
【図 5】



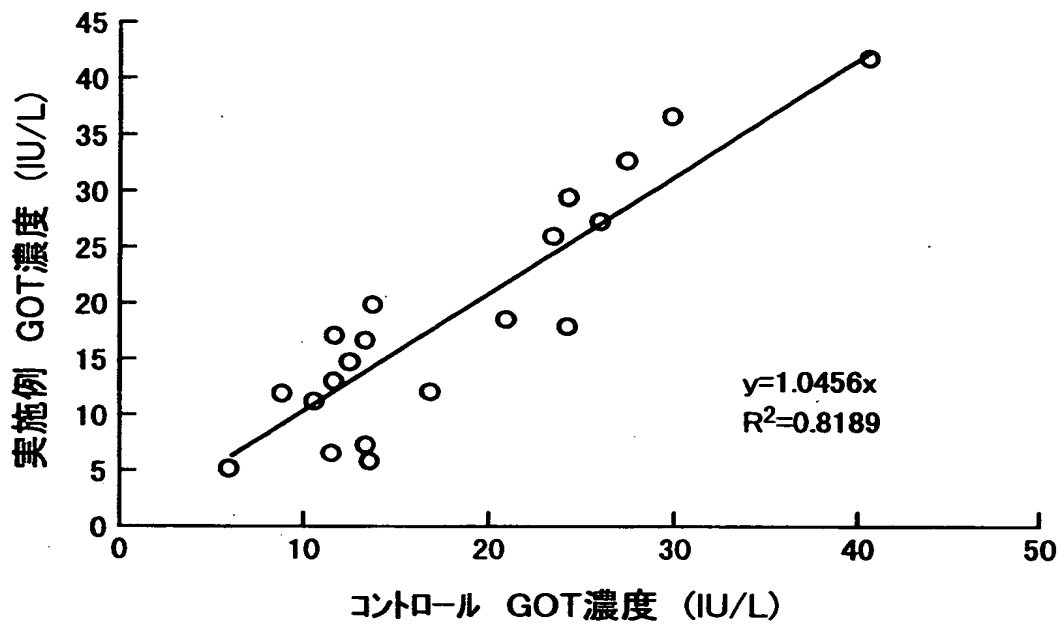
【図 6】



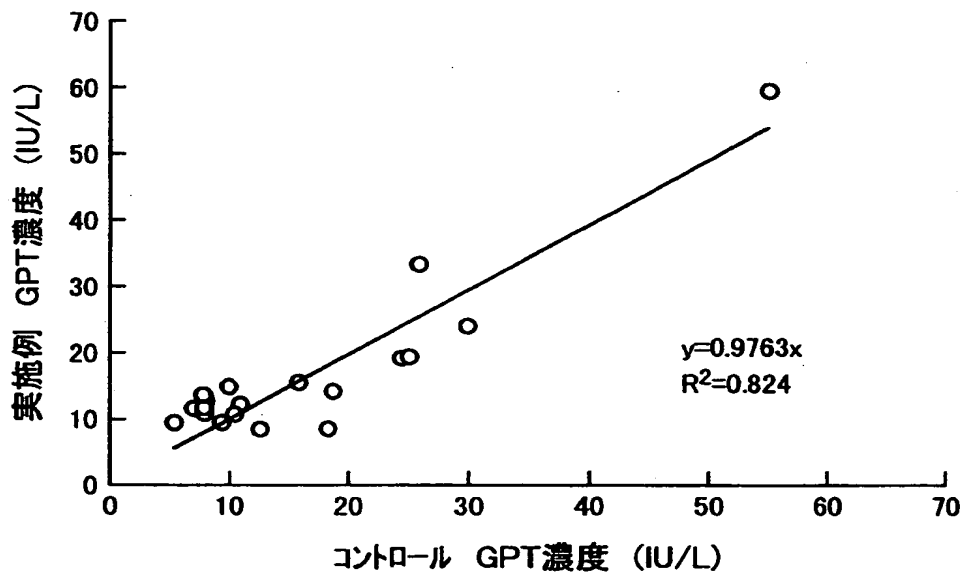
【図 7】



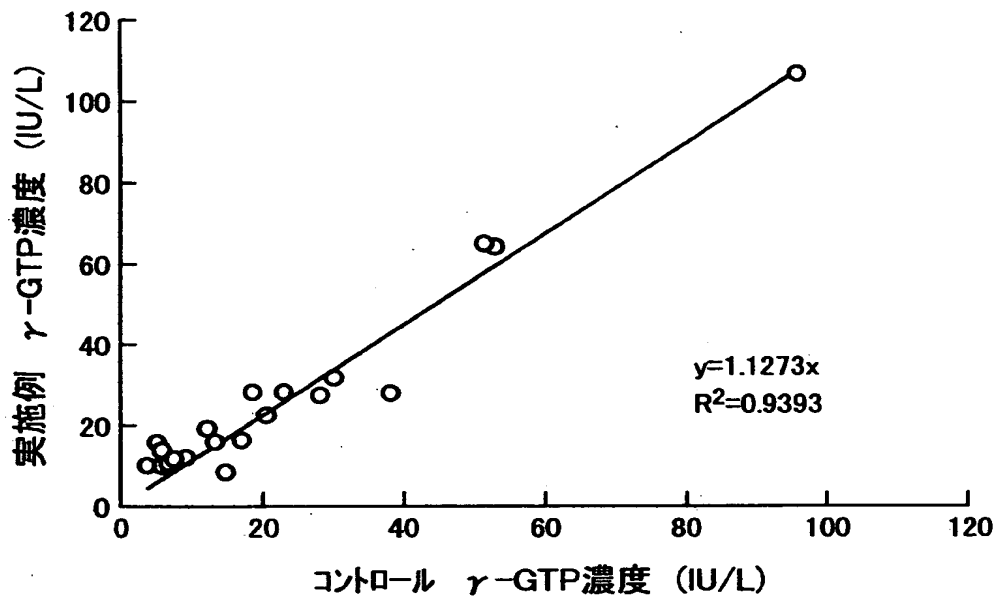
【図 8】



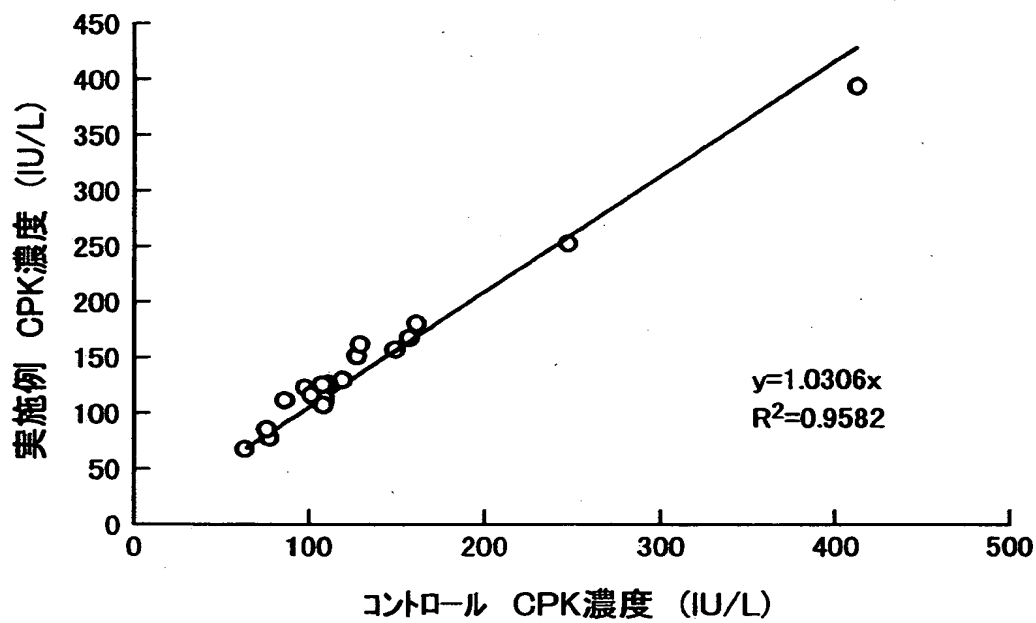
【図 9】



【図 1 0】



【図 1 1】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 血球を分離し、血漿または血清を高い収率で回収できる血液検査用具を提供する。

【解決手段】 厚み方向に平均孔径が連続的または不連続的に小さくなる孔径分布の非対称性多孔質膜において、その一部を血液供給部 1 1 とし、その他の一部を展開部 1 2 とし、前記血液供給部 1 1 と前記展開部 1 2 との間に、血球が通過できない孔径の孔のみからなる血球遮断部 1 3 を形成して、これを血液検査用具 1 0 とする。血液を前記血液供給部 1 1 の孔径が大きい側の面に供給すると、毛細管現象により前記血液は前記多孔質膜 1 0 の面方向に移動するが、前記展開部 1 2 には、血漿または血清のみが移動して展開する。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000141897]

1. 変更年月日 1990年 8月11日
[変更理由] 新規登録
住 所 京都府京都市南区東九条西明田町57番地
氏 名 株式会社京都第一科学
2. 変更年月日 2000年 6月12日
[変更理由] 名称変更
住 所 京都府京都市南区東九条西明田町57番地
氏 名 アークレイ株式会社